Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub

Die Wirkungen einiger kreislaufaktiver Substanzen auf Fermente

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Bertha Schär-Wüthrich
aus Basel

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A.G.
1943

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546709_0191

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub

Die Wirkungen einiger kreislaufaktiver Substanzen auf Fermente

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Bertha Schär-Wüthrich
aus Basel

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A.G.
1943

Genehmigt von der medizinischen Fakultät der Universität Basel auf Antrag von Herrn Prof. Dr. H. Staub.

Tag der Promotion: 10. Juni 1943.

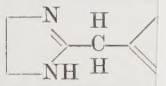
R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen XXVI,
Fasciculus Sextus, 1943.

Die Wirkungen einiger kreislaufaktiver Substanzen auf Fermente.

Der Einfluss kreislaufaktiver Substanzen auf die Fermente und ihre Aktivität wurde schon mehrfach untersucht. Die Experimente am Ganztier[1]) haben noch zu keiner einheitlichen Beantwortung der Frage nach Beziehungen von Fermentaktivität zu Blutdruckänderungen geführt. Die in vitro erzielten Ergebnisse[2]) sind übereinstimmender, sie geben jedoch vorläufig noch keine Erklärung für den Mechanismus der kreislaufaktiven Stoffe im Organismus.

Die chemis[illegible] Privin (II) und Otrivin (I[illegible]



I

zeichnen sich durch ihre unterschiedliche Wirkung auf den Blutdruck aus. Priscol ist in der Therapie als gefässerweiterndes, blutdrucksenkendes Pharmakon bekannt[3]). Privin wird als gefässverengendes Mittel zur Abschwellung der Schleimhäute der oberen Luftwege oder in der Augenheilkunde zur Behandlung der „chronischen Injektion" der Bindehaut empfohlen[4]). Otrivin führt am Menschen zu Bradykardie und langanhaltender Blutdrucksteigerung durch periphere Gefässkontraktion[5]).

Beim Selbstversuch mit 3,5 mg Otrivin subcutan zeigte sich an der Injektionsstelle sofort Gänsehaut, nach 2 Minuten Frösteln über Rücken und behaarte Kopfhaut. Darauf stellte sich Würgen im Hals und Atemnot ein, starke, synchron mit dem Puls von 32/Min. anschwellende Kopfschmerzen. Bewusstsein klar, Auffassung trotz heftiger Schmerzen und Angst rasch. Bl. Dr. 160/170 mm Hg Ekg Bradykardie, sonst normal. Blut-

[1]) *Ungar* und *Parrot*, C. r. **208**, 598 (1939); *Zinnitz* und *Rentz*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **195**, 329 (1940); *Rubino*, Ormoni **2**, 595 (1940), zit. n. Ber. ges. Physiol. **124**, 90 (1941); *Rentz*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **196**, 148 (1940); *Pirolli*, Cuore **25**, 414 (1941), zit. n. Ber. ges. Physiol. **129**, 529 (1941).

[2]) *Ammon*, Zentr. inn. Med. **7**, 114 (1942); *Werle*, Bioch. Z. **311**, 270 (1942); *Keeser*, Deut. med. Woch.schr. **1939**, I, 94.

[3]) *Siedbeck*, Z. klin. Med. **139**, 239 (1941); *Bauereisen*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **199**, 161 (1942).

[4]) *Meier* und *Müller*, Schw. Med. Wochschr. **1941**, 555; *Hild*, ibidem **1941**, 557; *Babel*, ibidem **1941**, 561.

[5]) *Pohle* und *Sarre*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **196**, 408 (1940).

zucker 100, 105 mg%. Nach ca. 20 Minuten Schweissausbruch und Erbrechen stark sauren Mageninhalts. Freie HCl 26, Gesamtacid. 46. Nach 10 Stunden bestanden noch starke Blässe der Haut, kalte Extremitäten, leichte Kopfschmerzen und eine Pulszahl von 53/Min.

Die Untersuchung der Wirkung dieser 3 Imidazoline[1]) auf Fermente, deren Substrate selbst kreislaufaktive Substanzen sind, ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Sie erstreckt sich auf:

1) Monoamin-oxydase, MO
2) Diamin-oxydase, DO
3) Cholin-esterase, ChE.

Die Einbeziehung mehrerer Fermentsysteme in die Untersuchung ist begründet, da die Beeinflussung enzymatischer Vorgänge durch Substrate fremder Fermentgruppen nachgewiesen ist. So wurde beispielsweise von *Wense*[2]) gefunden und von *Werle*[3]) bestätigt, dass Histamin die ChE hemmt. *Zeller*[4]) konnte zeigen, dass auch andere Substrate der DO (Cadaverin und Agmatin) Inhibitoren der ChE sind. Acetyl-cholin seinerseits wirkt hemmend auf die DO[5]). Sympatol aktiviert nach Angaben von *Keeser*[6]) sowohl die ChE als auch die DO.

1. Monoamin-oxydase.

Fermentdarstellung: Vom Pathologisch-anatomischen Institut[7]) normal befundene menschliche Nierenrinde wurde in kleine Stückchen geschnitten, mit *Sörensen*-Phosphatpuffer rasch abgespült und mit Quarzsand im Mörser zerrieben. 1 Teil Rinde wurde mit 3 Teilen 2,5-proz. Kochsalzlösung und einigen Tropfen Toluol versetzt und während 2 Stunden bei 38° C extrahiert. Darauf wurde zentrifugiert. Die über der Flüssigkeit schwimmende hellgelbe Schicht wurde sorgfältig mit Filtrierpapier entfernt, da sie in kleinsten Mengen die Fermentaktivität erheblich stört. Die Flüssigkeit wurde im Cellophanschlauch zuerst gegen Wasser, dann gegen Phosphatpuffer p_H 7,2 (stets gleiche Proportionen und Zeiten) im Eisschrank dialysiert. Vor dem Einfüllen des Extraktes in die *Warburg*-Gefässe wurde nochmals zentrifugiert.

Substrat: Als Substrat wurde Tyraminhydrochlorid verwendet. Es wurde, wie auch die Hemmkörper, in Phosphatpuffer gelöst.

Methode: Der durch oxydative Desaminierung verbrauchte Sauerstoff wurde in der *Warburg*'schen Apparatur manometrisch bestimmt[8]).

In den Hauptraum der *Warburg*-Gefässe wurde 2 cm³ Ferment gebracht, in den Anhang 0,1 cm³ Tyramin 0,1-m. und die Imidazoline. Totalinhalt der Gefässe 3 cm³. Das p_H wurde stets kontrolliert. Sauerstoffatmosphäre.

---

[1]) Die Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel stellte in verdankenswerter Weise die Präparate zur Verfügung.

[2]) *Wense*, Z. Fermentforsch. **15**, 291 (1939).

[3]) *Werle*, Klin. Wochschr. **37**, 821 (1942).

[4]) *Zeller*, Helv. **25**, 216 (1941).

[5]) *Werle*, l. c.

[6]) *Keeser*, Klin. Wochschr. **1938**, 1911; Deut. Med. Wochschr. **1939**, I, 94.

[7]) Hrn. Prof. Dr. *A. Werthemann* verdanke ich das Sektionsmaterial mit Befundangaben.

[8]) *Bernheim*, Biochem. J. **22**, 968 (1928).

Die menschlichen Nieren weisen einen wechselnden Gehalt an MO auf; dieser ist wohl abhängig vor allem von der Zeit, die verstreicht von der Todesstunde bis zur Darstellung des Extraktes, evtl. auch von Alter und Krankheit. Zu den vorliegenden Versuchen wurden nur Extrakte mit etwa gleicher Fermentaktivität verwendet.

Figur 1 zeigt einen Versuch mit steigenden Konzentrationen von Priscol. Die ausgezogene Kurve ergibt sich aus zwei ungehemmten Ansätzen. Die mittlere Abweichung der Einzelbestimmung wurde an einem andern Extrakt untersucht und betrug dort $\delta = \sqrt{\frac{95,74}{7-1}}$. Die gestrichelten Kurven stellen die mit Priscol gehemmten Ansätze dar; die daneben stehenden Zahlen geben die Molarität des Inhibitors an. Leerwerte, Sauerstoffverbrauch des Fermentes allein und des Fermentes mit den verschiedenen Konzentrationen von Priscol sind von den entsprechenden Werten abgezogen. Sie betrugen nach 4 Stunden: 2,0; 0; 1,2; 1,7; 1,3; 5,9 mm³ O_2. Daraus ist zu ersehen, dass Priscol innerhalb der Versuchsdauer durch das Ferment nicht unter Gasverbrauch verändert wird. Privin und Otrivin verhalten sich ebenso.

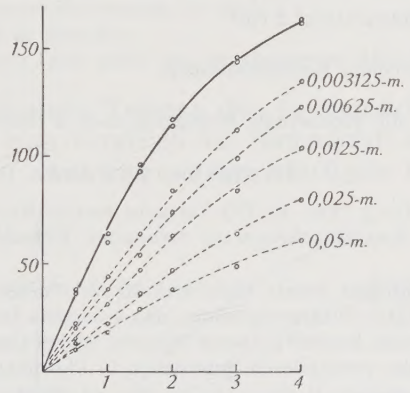


Fig. 1.

Hemmung der Monamin-oxydase durch Priscol.

Ferment: Nierenrindenextrakt 2 cm³.
Substrat: Tyramin 0,0033-m.
Priscol in angegebenen Konzentrationen.
Gefässinhalt: 3 cm³.
Ordinate: Sauerstoffverbrauch in mm³.
Abszisse: Zeit in Stunden.
Ausgezogene Linie stellt den ungehemmten Ablauf der Spaltung dar.

In Tabelle I sind die nach 2 Stunden gefundenen Werte der Hemmung in Prozent angegeben. Die in Klammern gesetzten Zahlen sind die Nummern der aus verschiedenen Nieren dargestellten Extrakte. In den mit I bezeichneten Reihen wurden alle Inhibitorkonzentrationen mit demselben Extrakt angesetzt, in den mit II bezeichneten

wurde zu jeder Konzentration des Inhibitors ein anderes Ferment verwendet. Es sollte damit eine den einzelnen Extrakten zukommende verschiedene Empfindlichkeit dem Imidazolin gegenüber gezeigt und berücksichtigt werden.

Die Monamin-oxydase wird durch die drei untersuchten Imidazoline gehemmt und zwar durch Privin am stärksten, durch Priscol am schwächsten.

Tabelle I.

Prozentuale Hemmung der Monamin-Oxydase durch Privin, Otrivin und Priscol.

Molarität des Inhibitors	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125
Privin I . . .	93,8(1)	91,2(1)	77,0(1)	70,8(1)	67,0(1)
Privin II . .	—	84,0(5)	66,1(6)	59,0(7)	—
Otrivin I . .	90,4(2)	83,2(2)	69,5(2)	50,4(2)	48,1(2)
Otrivin II . .	—	75,4(5)	51,0(6)	53,8(7)	—
Priscol I . . .	66,6(3)	58,9(3)	45,4(3)	36,0(3)	27,5(3)
Priscol II . .	83,7(4)	58,7(5)	34,6(6)	25,9(7)	—

Ferment: Nierenrindenextrakt 2 cm³.
Tyramin 0,0033-m.
Inhibitor in angegebenen Konzentrationen.
Gefässinhalt 3 cm³.
Die Zahlen stellen die prozentuale Hemmung nach 2 Stunden dar.

2. Diamin-oxydase.

Fermentdarstellung: Für die DO-Versuche wurde das übliche, aus Schweinsnierenrinde dargestellte Acetontrockenpulver verwendet. Extraktion und Dialyse siehe Darstellung der MO.

Substrat: Als Substrat wurde Cadaverin-dihydrochlorid verwendet. Histamin zeigt ein scharf ausgeprägtes Substratoptimum, das besonders bei Hemmungsversuchen mit Imidazolinen mitspielen könnte[1]). Dieses Moment ist bei Cadaverin weniger zu berücksichtigen. Lösung aller verwendeten Substanzen in Phosphatpuffer p_H 7,2.

Methode: Manometrische Bestimmung des Sauerstoffverbrauches in der *Warburg*schen Apparatur[2]).

In den Hauptraum der *Warburg*-Gefässe wurde 1 cm³ Ferment und 1 Tropfen Octylalkohol gebracht, in den Anhang 0,1 cm³ Cadaverin 0,1-m. und die Imidazoline. Totalinhalt der Gefässe 2 cm³. Sauerstoffatmosphäre. Das p_H wurde stets kontrolliert.

Die untersuchten Imidazoline erweisen sich auch der DO gegenüber als Hemmkörper.

Figur 2 zeigt einen Versuch mit Privin als Inhibitor. Die ausgezogene Linie stellt den ungehemmten Ansatz dar, die gestrichelten sind die mit Privin gehemmten Versuche. Die entsprechenden Leerwerte, die alle sehr klein sind, wurden abgezogen. Die Molarität des Substrates beträgt 0,005, die Molarität des Hemmkörpers in der Ver-

[1]) *Zeller*, Diamin-oxydase, Advances in Enzymology, Bd. II (1942), S. 93.
[2]) *Gebauer-Fuelnegg* und *Alt*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **29**, 531 (1932).

suchslösung ist neben den Kurven angegeben, in Klammern sind die Gewichtsteile pro Ansatz angeführt.

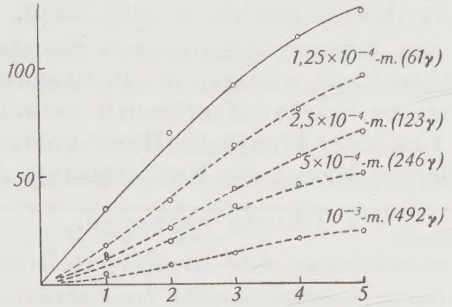


Fig. 2.

Hemmung der Diamin-oxydase durch Privin.

Ferment: Nierenrindenextrakt 1 cm³.
Substrat: Cadaverin 0,005-m.
Privin in angegebenen Konzentrationen.
Gefässinhalt: 2 cm³.
Ordinate: Sauerstoffverbrauch in mm³.
Abszisse: Zeit in Stunden.
Die ausgezogene Linie stellt den ungehemmten Ablauf der Spaltung dar.

Figur 3 stellt einen Versuch dar, in dem äquimolare Lösungen der 3 Imidazoline zum Vergleich der Hemmkraft angewandt wurden. Privin erweist sich auch hier als der kräftigste Inhibitor.

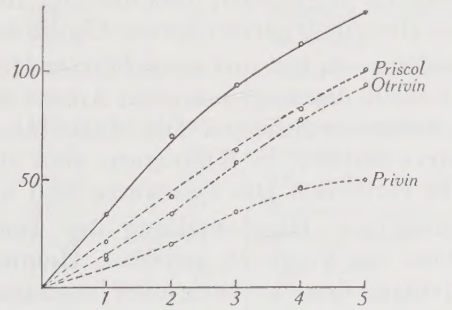


Fig. 3.

Hemmung der Diamin-oxydase durch äquimolare (0,0005-m.) Lösungen Imidazoline.

Ferment: Nierenrindenextrakt 1 cm³
Substrat: Cadaverin 0,005-m.
Hemmkörper: 0,0005-m.
Gefässinhalt: 2 cm³.
Ordinate: Sauerstoffverbrauch in mm³.
Abszisse: Zeit in Stunden.
Die ausgezogene Linie stellt den ungehemmten Ablauf der Spaltung dar.

Wird an Stelle von Cadaverin Histamin als Substrat verwendet, so ergibt sich dasselbe Bild. Privin wirkt auch dann am stärksten hemmend, was als weiterer Hinweis für die Identität der Histaminase mit der Diamin-oxydase angesehen werden kann.

Bricht man den Versuch nicht nach 5 Stunden ab, so zeigt es sich, dass nach Ablauf von weiteren 5—10 Stunden die gehemmten Ansätze einen höheren Sauerstoffverbrauch aufweisen als der ungehemmte Ansatz. Und zwar kreuzt die Hemmkurve die Ungehemmte zeitlich um so eher, je kleiner die Konzentration des Inhibitors ist.

3. Cholin-esterase.

A. Cholin-esterase des menschlichen Serums.

Ferment: Das Serum, das in den folgenden Versuchen stets 1 : 5 mit *Krebs-Ringer*-Lösung[1]) verdünnt wurde, stammte ausschliesslich von männlichen Patienten verschiedenen Alters. Es war in keinem Falle älter als 48 Stunden, meist war es am Versuchstag entnommen (Dialysenversuche ausgenommen). In dieser Zeit ändert sich der Fermentgehalt des Serums nicht.

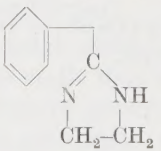
Substrat: Acetyl-cholin „Roche" wurde vor jedem Versuch frisch gelöst. Die Eigenhydrolyse in 30 Minuten schwankte zwischen 1,8 und 4,5 mm^3 CO_2. Sie ist in keinem Falle von den Versuchswerten abgezogen worden.

Methode: Manometrische Bestimmung nach *Ammon*[2]). Das Ferment, 0,5 cm^3, wurde in den Anhang gebracht, Substrat und Imidazoline in den Hauptraum, ausgenommen jene Versuche, in denen eine andere Verteilung der Lösungen im *Warburg*-Gefäss ausdrücklich beschrieben ist. Auf die Wasserstoffionenkonzentration wurde geachtet, p_H 7,8 genau eingehalten. Gesamtinhalt des Gefässes 2 cm^3. Die mittlere Abweichung der Einzelbestimmung betrug $\delta = \sqrt{\frac{79{,}98}{10}}$.

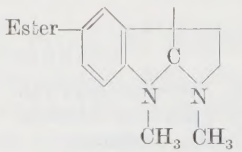
Bei den Versuchen zeigte sich, dass die drei Imidazoline ausserordentlich kräftige Hemmkörper der Serum-Cholin-esterase darstellen.

Fig. 4 (S. 1843) ist ein Beispiel ausgeführter Hemmversuche. Die ausgezogene Linie stellt den ungehemmten Ansatz dar, die gestrichelten Linien die gehemmten Ansätze. Die Molarität der Hemmkörper ist neben der Kurve notiert, in Klammern sind die absoluten Gewichte pro Ansatz vermerkt. Die Leerwerte sind abgezogen.

Bei dieser kräftigen Hemmwirkung der Imidazoline auf die Serum-ChE erschien ein Vergleich zwischen Hemmungsart der Imidazoline und derjenigen des Physostigmins interessant, besonders, da beide Körper eine gewisse Strukturähnlichkeit aufweisen.



Priscol



Physostigmin

[1]) *Krebs* und *Henseleit*, Z. physiol. Ch. **210**, 33 (1932).
[2]) *Ammon*, Arch. ges. Physiol. **233**, 486 (1933).

Zu diesen Versuchen wurde stets frisches Serum männlicher Patienten verwendet. Das Fermentmaterial war deshalb nicht ganz einheitlich. Tabelle II gibt einen Überblick über Alter und Diagnose der Kranken und über die Fermentaktivität ihrer Seren. Seren von Kranken, bei denen eine wesentliche pathologische Abweichung im Esterasegehalt des Serums zu erwarten war, wurden nicht verwendet.

Tabelle II.

Überblick über das verwendete Ferment (Serum)-Material.

Versuch Nr.	mm^3 CO_2/30 Min.	Alter	Diagnose
1	123,0	55	Carcinom
2	204,5	54	Alkoholintoxikation
3	154,5	33	Benzolvergiftung
6	140,2	54	Pleuritis exsud.
6a	139,0	63	Carc. ventric.
7	123,1	64	Diabetes mellitus
8	106,9	65	Tabes
9	165,6	48	Hemiplegie
16	194,4	23	Icterus simpl. in Heilung
17	165,5	61	Chron. Nephritis
19	91,0	70	Pleuritis
21	140,2	35	Gastroenteritis
22	164,9	42	Multiple Sklerose
25	181,3	55	Gastritis
26	200,2	43	Nephrosklerose
27	198,7	40	Epilepsie, Gastroenteritis
28	125,0	61	Bronchitis
29a	216,4	30	Oligophren. Psychopathie
29b	153,1	56	Gastritis
29c	122,3	65	Beobachtungsfall
29d	92,3	59	Polyarthritis
30	228,9	23	Tbc. pulm. et abdom.
34	207,0	37	Beobachtungsfall, früher Icterus
35	101,3	63	Myodeg. cordis
36	116,2	44	Tbc. pulm.
37	212,8	57	Myodeg. cordis
38	180,1	45	Pleuritis
39	123,8	61	Ulcus ventric.
40	211,8	36	Ulcus ventric.
41	89,8	64	Chron. Nephritis, Diabetes mellitus
44	231,1	63	Chron. Nephritis, Hypertonie

Die *Warburg*-Gefässe enthielten:

Serum 1 : 5 verdünnt 0,5 cm^3
Acetyl-cholin 4 mg
Gesamtinhalt 2 cm^3.

Prozentuale Hemmung bei wechselndem Fermentgehalt.

Um bei der verschiedenen Fermentaktivität der Seren einen Vergleich zuzulassen, wurden die gehemmten Ansätze auf den mit gleichem Serum angesetzten ungehemmten Versuch bezogen. Dabei zeigte sich, dass trotz wechselndem Esterasegehalt eine Konzentration des Inhibitors prozentual immer die gleich grosse Hemmung erzielt.

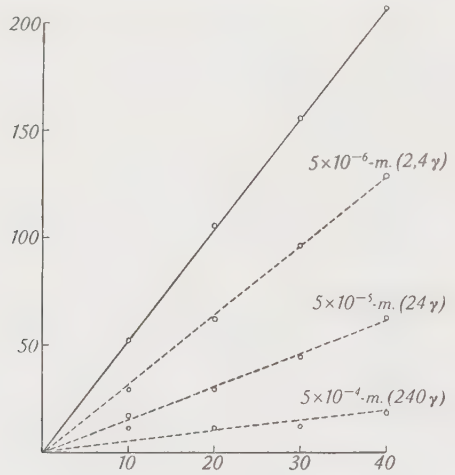


Fig. 4.

Hemmung der Serum-Cholin-esterase durch Privin.

Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt.
Acetyl-cholin 4 mg.
Hemmkörper in angegebenen Konzentrationen.
Inhalt des Gefässes: 2 cm³.
Ordinate: CO_2 mm³.
Abszisse: Zeit in Minuten.
Ausgezogene Kurve stellt den ungehemmten Ansatz dar.

Tabelle III.

Hemmung bei verschiedenem Fermentgehalt der Seren.

Versuch Nr.	ohne Priscol	mit Priscol	Serum-Leerwert	Hemmung in %
29a	216,4	92,0	0	57,5
29b	153,1	67,5	4,8	56,0
29c	122,3	49,4	− 2,8	59,6
29d	92,3	38,7	− 2,3	58,1

Die Zahlen bedeuten mm³ CO_2 in 30 Min.
1 : 5 verdünntes Serum 0,5 cm³
Acetyl-cholin 4 mg
Priscol 56 γ
Gesamtinhalt des Gefässes 2 cm³.

Tabelle III stellt einen Versuch mit 4 verschieden aktiven Fermenten dar. Als Inhibitor wurde Priscol angewandt. Die prozentual erreichte Hemmung weist übereinstimmende Werte auf. Bei Privin und Otrivin findet sich das gleiche Verhalten.

Bleibt das Verhältnis von Substrat zu Hemmkörper das gleiche, so beeinflusst die wechselnde Fermentaktivität der einzelnen Seren die relativen Werte der Hemmung nicht. Diese Tatsache spricht dafür, dass es sich bei den Imidazolinen um eine kompetitive Hemmung handeln könnte.

Hemmung in Abhängigkeit von der Substratkonzentration.

Es wurde daher sowohl bei den Imidazolinen als auch beim Physostigmin die Abhängigkeit der Hemmung von der Konzentration des Substrates Acetyl-cholin untersucht. In den Figuren 5 und 6 sind die Befunde dargestellt nach *Michaelis*. Die Abszisse trägt die Anfangskonzentration des Substrates in mg, die Ordinate die Zahl

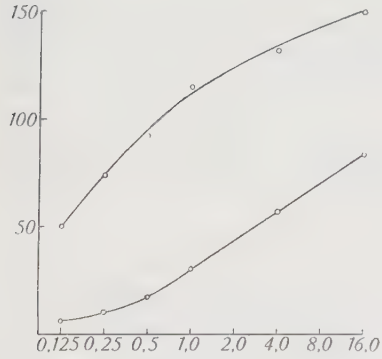


Fig. 5.

Hemmung der Serum-Cholinesterase durch 1 γ Physostigmin-salicylat bei verschiedener Substratkonzentration.

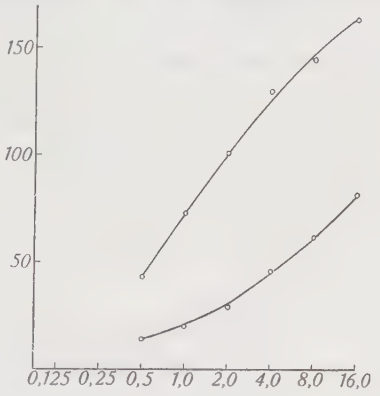


Fig. 6.

Hemmung der Serum-Cholinesterase durch 74 γ Priscol bei verschiedener Substratkonzentration.

Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt.
Gesamtinhalt der Gefässe 2 cm³.
Ordinate: CO_2 mm³ nach 20 Min. Versuchsdauer.
Abszisse: Acetyl-cholin in mg.
Obere Kurve: ungehemmte Ansätze.
Untere Kurve: mit 1 γ Physostigmin-salicylat resp. 74 γ Priscol gehemmte Ansätze.

der freigewordenen mm³ CO_2 in 20 Minuten. Die obere Kurve ergibt sich aus den Werten der ungehemmten Versuchsreihe, die untere aus denen der gehemmten. Die Gewichtsteile Hemmkörper, die pro ge-

hemmten Ansatz zur Verwendung kamen, sind in den Figuren angegeben. Die 20-Minuten-Werte sind hier gewählt, da sich die Versuche mit kleinen Substratkonzentrationen in einem späteren Zeitpunkt nicht mehr in der Phase der linearen Reaktion befinden. Nur Vergleiche in dieser Phase der Fermentreaktion geben ein zuverlässiges Bild der Reaktionsgeschwindigkeit und damit der erzielten Hemmung.

Die Geschwindigkeit der Spaltung ist nicht in allen Substratkonzentrationen im gleichen Masse vermindert, d. h. es besteht eine Änderung des Hemmungskoeffizienten. Damit scheint die „kompetitive" Art der Hemmung nachgewiesen.

In Tabelle IV ist die bei den verschiedenen Substratkonzentrationen gefundene Hemmung in Prozent ausgerechnet. Bei dieser Umrechnung kommt, deutlicher als bei den graphischen Darstellungen Figur 5 und 6, die Verschiedenheit in der Art der Hemmung zwischen Physostigmin und Imidazolinen zum Ausdruck. Physostigmin hemmt um so stärker, je kleiner die Substratkonzentration ist, mit zunehmender Substratmenge wird die Hemmung schwächer. Anders die Imidazoline. Bei kleinen Substratkonzentrationen ist die hemmende Wirkung gering; diese steigt an, um bei einem gewissen Verhältnis von Substrat zu Hemmkörper ein Maximum zu erreichen. Bei weiter zunehmenden Substratmengen nimmt die Hemmkraft wieder ab. Aus dieser Tatsache lässt sich schliessen, dass, obwohl es sich in beiden Fällen um eine kompetitive Hemmung zu handeln scheint, die Wirkungsart des Physostigmins auf das Substrat-Ferment-System eine andere ist als diejenige der Imidazoline.

Tabelle IV.

Prozentuale Hemmung der Serum-Cholin-esterase durch Physostigmin und Imidazoline bei verschiedener Substrat-Konzentration.

Acetyl-cholin in mg	0,125	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0
Physostigmin-salicylat 1 γ (Vers. 32)	88,3	85,6	82,1	74,3		57,0		43,9
Privin 9 γ (Vers. 17)				45,4	53,9	46,7	35,5	
Otrivin 17 γ (Vers. 31)	10,2	23,4			59,8		55,0	37,6
Priscol 74 γ (Vers. 28)			67,1	73,4	71,3	64,9	57,5	49,9

Die Zahlen bedeuten Hemmung in Prozent, Versuchsdauer 20 Min.
1 : 5 verdünntes Serum 0,5 cm³.
Acetyl-cholin } in angegebenen Mengen.
Hemmkörper }
Gesamtinhalt des Gefässes 2 cm³.

Reaktionszeit und Inkubation.

Wird bei den Imidazolinen in der allgemein üblichen Weise die in gewissen Zeitabständen erreichte Hydrolyse im Koordinatensystem eingetragen, so ergibt sich eine Gerade. Da auch die ungehemmte enzymatische Hydrolyse sich graphisch als eine Gerade darstellt, so ist, solange sich der ungehemmte enzymatische Prozess in der Phase der sog. monomolekularen Reaktion befindet, die Hemmung prozentual in jedem Zeitpunkt die gleiche. Wird bei gleichbleibender Fermentmenge die Substratkonzentration variiert, so findet sich bei einheitlicher Imidazolinkonzentration in allen Ansätzen die Gerade.

Physostigmin verhält sich anders. Je kleiner die Substratmenge bei gleichbleibender Fermentmenge ist, desto rascher wird von einer einheitlichen Physostigminkonzentration der Zeitpunkt erreicht, in dem die Kohlendioxyd-Abgabe vollständig aufgehört hat (asymptotischer Kurvenverlauf). Die prozentual berechnete Hemmung nimmt mit der Zeit zu. Aus dieser Tatsache muss sich die aus Tabelle IV errechnete Feststellung ergeben: Je kleiner die Substratkonzentration ist, um so grösser wird bei gleichbleibender Physostigmin- und Fermentmenge die in der gleichen Zeiteinheit gefundene Hemmung. (Siehe dazu Figur 7.) Denselben Befund geben *Massart* und *Dufait*[1]) für Physostigmin und Methylenblau an.

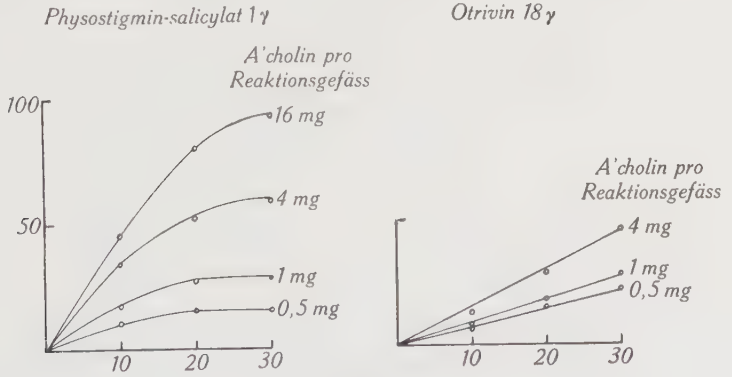


Fig. 7.

Zeitlicher Ablauf der Physostigmin- und Imidazolin-Hemmung bei verschiedener Substratkonzentration.

Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt.
Gefässinhalt 2 cm³
Acetyl-cholin und Hemmkörper in den bei der Kurve angegebenen Konzentrationen.
Ordinate: mm³ CO_2.
Abszisse: Zeit in Minuten.

Um eventuelle weitere Unterschiede zwischen Imidazolin- und Physostigmin-Hemmung festzustellen, wurde der Ablauf der gehemm-

[1]) *Massart* und *Dufait*, Enzymologica **9**, 364 (1941).

ten Spaltung mit folgenden Modifikationen der Versuchsanordnung untersucht:

a) bei vorheriger Inkubation von Hemmstoff und Ferment. Inhibitor und Serum wurden beim Einpipettieren der Lösungen in den Anhang des *Warburg*-Gefässes zusammengebracht und im Zeitpunkt 0 nach halbstündiger Inkubation zum Substrat gekippt.

b) Hemmstoff und Substrat wurden zusammen in den Hauptraum des Gefässes pipettiert (übliche Anordnung), das Ferment wurde im Zeitpunkt 0 zum Substrat-Inhibitor-Gemisch gekippt.

c) Ferment, Hemmkörper und Substrat wurden alle drei in gesonderte Räume des *Warburg*-Gefässes pipettiert. Im Zeitpunkt 0 wurde das Ferment zum Substrat gebracht. Im Zeitpunkt 10 Minuten, also bei bereits vor sich gehender Hydrolyse wurde der Hemmstoff zugekippt.

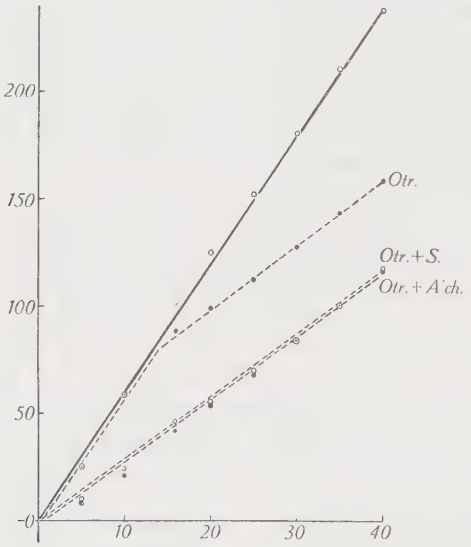


Fig. 8.

Beeinflussung der Serum-Cholin-esterase durch Inhibitor-Inkubation.

Otr. + S. = Versuchsanordnung a)
Otr. + A'ch. = „ b)
Otr. = „ c)
} siehe Text.

S. = Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt.
A'ch. = Acetyl-cholin 4 mg.
Otr. = Otrivin 17 γ.
Gefässinhalt: 2 cm³.
Ordinate: CO_2 mm³.
Abszisse: Zeit in Minuten.
Die ausgezogene Kurve stellt den ungehemmten Ansatz dar.

Figur 8 und 9 zeigen die Ergebnisse graphisch dargestellt. Bei den Imidazolinen bleibt es sich gleich, ob der Hemmstoff dem Ferment vorher oder erst mit dem Substrat zusammen angeboten wird. Die Hemmung tritt augenblicklich ein. Graphisch ergibt sich stets die gleiche Gerade. Beim Zukippen des Imidazolins 10 Minuten nach Beginn der Spaltung verläuft die Gerade den beiden ersten parallel.

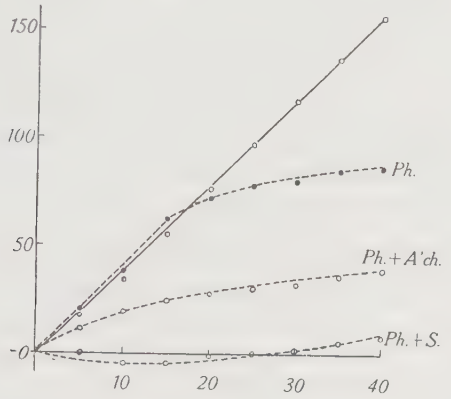


Fig. 9.
Beeinflussung der Serum-Cholin-esterase durch Inhibitor-Inkubation.

Ph. + S. = Versuchsanordnung a)
Ph. + A'ch. = „ b)
Ph. = „ c)
} siehe Text.

S. = Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt.
A'ch. = Acetyl-cholin 4 mg.
Ph. = Physostigmin-salicylat 1 γ.
Gefässinhalt 2 cm³.
Ordinate: CO_2 mm³.
Abszisse: Zeit in Minuten.
Die ausgezogene Kurve stellt den ungehemmten Ansatz dar.

Beim Physostigmin besteht ein wesentlicher Unterschied im Spaltungsablauf zwischen demjenigen Ansatz, bei dem der Hemmstoff vorher zum Ferment gebracht wurde und demjenigen, in dem das Ferment zum Hemmstoff-Substrat-Gemisch im Zeitpunkt 0 gekippt wurde. 30 Minuten Inkubation des Fermentes mit 1 γ Physostigminsalicylat haben genügt, um das Ferment für die Versuchsdauer von 30 Minuten vollständig zu inaktivieren. Ob es sich bei der nach 30 Minuten einsetzenden schwachen Gasentwicklung um eine Folge der Zerstörung des Physostigmins durch das Serum handelt oder um eine Verdrängung des Inhibitors durch das Substrat, ist unabgeklärt. Die Hemmungskurve des nach 10 Minuten zugekippten Physostigmins entspricht in ihrem Ablauf genau derjenigen, in der der Hemmkörper im Zeitpunkt 0 gekippt wurde.

In fermentchemischen Arbeiten wird beim Vergleich der Wirkungen in der Regel so vorgegangen: Zu einem gegebenen Zeitpunkt wird der Effekt bestimmt und die durch die untersuchten Stoffe erreichte Wirkung mit der normalen physiologischen Funktion verglichen. Für quantitative Vergleiche ist dieses Vorgehen zulässig, wenn die Stoffe sich in der Art ihrer Wirkung nicht unterscheiden. Imidazolin und Physostigmin unterscheiden sich aber durch die Reaktionszeit. Es scheint deshalb nicht zulässig, ihre Wirkung in einem Zeitpunkt miteinander zu vergleichen. Beim Physostigmin nimmt mit der Versuchsdauer die prozentuale Hemmung zu, und zwar ist diese Zunahme um so grösser, je kleiner die angewandte Physostigminkonzentration ist. Die Imidazoline zeigen in ihren Hemmkurven einen linearen Verlauf und deshalb über den ganzen Reaktionsverlauf eine konstante prozentuale Hemmung (vergleiche dazu Kurven 8 und 9).

Physostigmin-Imidazolin-Konkurrenzversuche.

Dies muss berücksichtigt werden bei Physostigmin-Imidazolin-Konkurrenzversuchen, die interessant erscheinen, sobald angenommen werden kann, dass beide Körper an der gleichen Stelle der Fermentmolekel angreifen.

Variation der Physostigminkonzentration bei kleinen Imidazolinmengen ergibt eine kleine Verstärkung der Hemmung bei grossen Physostigminkonzentrationen, eine mässige Verstärkung bei mittleren Physostigminkonzentrationen. Diese mässige Verstärkung der Hemmung bei mittleren Physostigminkonzentrationen ergibt sich aus der Kohlendioxyd-Abgabe während den ersten Minuten des Versuches, in denen die Hemmung durch das Imidazolin bereits eingesetzt hat, die Physostigminhemmung jedoch noch auf sich warten lässt. Bei kleinen Physostigminkonzentrationen vermag eine kleine Otrivinmenge den Eintritt der Physostigminhemmung zeitlich zu verzögern. Aus den Differenzen der Ablesewerte (die Ablesung wurde alle 10 Minuten vorgenommen) ist dies ersichtlich. 0,5 γ Physostigmin-salicylat allein ergeben Δ = 14, 8, 5, 5, 4, 2, 2. 0,5 γ Physostigmin-salicylat und 105 γ Otrivin ergeben Δ = 11, 9, 4, 6, 5, 6, 5. (Die Ansätze enthielten 0,5 cm^3 Serum 1 : 5 verdünnt, 4 mg Acetyl-cholin, Gesamtvolumen 2 cm^3.) Beim Zusatz von kleinen Imidazolinmengen kann mit kleinen Physostigminkonzentrationen in keinem Zeitpunkt der Versuchsdauer eine vollständige Hemmung der Kohlendioxydabgabe erzielt werden.

Variation der Imidazolinkonzentration bei gleichbleibender Physostigmin-Ferment- und Substratkonzentration ergibt: Bei grossen Imidazolinkonzentrationen findet sich eine geringgradige Verstärkung der Hemmung, bei mittleren Konzentrationen eine mässige Verstärkung und bei niedrigen Imidazolinkonzentrationen, die für sich allein noch zu einer Hemmung von 22 % führen, erzielt das Gemisch noch

eine Hemmung von 63%, während das Physostigmin allein eine solche von 68% erreichen konnte. Die Ablesung dieser Konzentrationsreihe wurde in einem Zeitpunkt vorgenommen, in dem die Wirkung des Physostigmins sich voll entfaltet hatte.

Reversibilität der Hemmung.

Die Hemmung des Physostigmins ist reversibel[1]). Durch Dialyse können die Imidazoline aus der Fermentlösung entfernt werden. Das Ferment entfaltet nach der Dialyse seine volle Aktivität. Bei gleichen Substratmengen pro Reaktionsgemisch ergab z. B. ein mit *Krebs-Ringer*-Lösung verdünntes Serum nach 3 Tagen Dialyse gegen *Krebs-Ringer* im Eisschrank gehalten eine Kohlendioxyd-Abgabe von 235 mm^3 in 30 Minuten. Das gleiche Serum mit einer Privin-*Krebs-Ringer*-Lösung verdünnt, gegen *Krebs-Ringer* dialysiert entwickelte 227 mm^3 Kohlendioxyd in der gleichen Zeit. Die dritte Portion dieses Serums dialysierte gegen die Privin-*Krebs-Ringer*-Lösung und entwickelte 146 mm^3 Kohlendioxyd. Die Hemmung der Imidazoline ist also ebenfalls reversibel.

Fermentdialyse und ihr Einfluss auf die Hemmung.

Wird Serum gegen *Krebs-Ringer*-Lösung dialysiert, so verliert es an Fermentaktivität. (Wie auch andere Autoren mehrfach feststellten, behält das undialysierte Ferment im Eisschrank aufbewahrt über Tage seine vollständige Aktivität.) Bei dieser teilweisen Inaktivierung wird eine Entfernung von Schutzstoffen gegen eine Metallionenwirkung angenommen[2]). Eine Verarmung an Calciumsalzen[3]) kommt bei der Dialyse gegen *Krebs-Ringer*-Lösung nicht in Frage.

Wie die Versuche zeigen, ist in verschieden aktiven Seren die prozentuale Hemmkraft die gleiche, wenn das Verhältnis von Hemmkörper zu Substrat (Imidazolin zu Acetyl-cholin) sich nicht ändert. Dass bei der Abnahme der Fermentaktivität durch Dialyse des Serums die in Prozenten errechnete Hemmung die gleiche bleibt, geht aus Tabelle V hervor, in der einige Dialysenversuche zusammengestellt sind. Bei der Hemmung des Fermentes durch die Imidazoline spielt also kein in die *Krebs-Ringer*-Lösung dialysierender Körper eine Rolle (Dialyse im Cellophanschlauch).

In Fig. 10 (S. 1852) sind Konzentrationsreihen der 3 Imidazoline dargestellt. Auf der Ordinate wurde die in Prozenten ausgerechnete Hemmung aufgetragen, auf der Abszisse die Molarität der hemmenden Lösungen. Aus der Figur lassen sich graphisch diejenigen Werte er-

---

[1]) Handbuch der Enzymologie, *Nord* und *Weidenhagen*, Verlag Becker & Erler, Leipzig 1940, S. 167.

[2]) *Nachmansohn* und *Lederer*, C. r. Soc. Biol. **130**, 321 (1939).

[3]) *Massart* und *Dufait*, Enzymologica **6**, 282 (1939).

mitteln, die im Versuch eine 50-proz. Hemmung erzielen. Ermittelt wurde auf diese Weise:

für Privin 6 γ
Otrivin 23 γ
Priscol 41 γ

Bei der Kontrolle wurde gefunden:

mit 56 γ Priscol: 46,5; 47,2; 45,3; 48,0%
17 γ Otrivin: 42,5%
9 γ Privin: 46,8%
12 γ Privin: 50,6% Hemmung.

Tabelle V.

Hemmung der durch Dialyse veränderten Serum-Cholin-esterase durch Imidazoline.

Serum 1 : 5 verdünnt undialysiert			Dialyse während Tagen	Serum 1 : 5 verdünnt dialysiert			Abnahme d. Aktivität durch Dialyse in %
ohne Inhibitor	mit Inhibitor	Hemmung in %		ohne Inhibitor	mit Inhibitor	Hemmung in %	
77,9	30,5	60,8	2	70,5	26,2	62,9	9
216,0	106,9	50,6	4	212,3	88,7	58,2	2
126,8	69,0	46,5	2	122,8	67,8	44,6	4
138,9	73,7	47,2	2	126,3	65,5	48,3	9
159,6	87,4	45,3	3	145,7	80,0	45,0	9
126,8	65,7	48,0	3	120,6	63,0	47,7	5
138,2	78,2	43,5	4	136,6	76,5	44,0	1
138,2	73,5	46,8	4	136,6	73,8	45,0	1

Die Ansätze enthielten:

Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt
Acetyl-cholin 4 mg
Privin 9 γ oder Priscol 37 γ
Gesamtinhalt der Gefässe 2 cm³
mm³ CO_2 nach 30 Minuten.

Es hemmt also im Serum des Menschen Privin am kräftigsten, Priscol am schwächsten.

B. Cholin-esterase der menschlichen Gehirnzentren.

Riechert und *Schmid* stellten bei der Hemmung durch Methylenblau fest, dass diese je nach der Herkunft der Esterase, Blutegelextrakt oder Serum, verschieden kräftig ausfällt[1]). Nach *Zeller* muss die Herkunft des Fermentes von einem bestimmten Organ oder einer Tierart berücksichtigt werden, wenn die physiologische, pharmakologische und therapeutische Wirksamkeit fermentaktiver Stoffe diskutiert wird[2]).

[1]) *Riechert* und *Schmid*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **199**, 66 (1942).
[2]) *Zeller*, Helv. **25**, 1099 (1942).

Um weitere Anhaltspunkte über den Wirkungsmechanismus der drei Imidazoline zu finden, wurden an Hirn-cholin-esterase Hemmversuche durchgeführt.

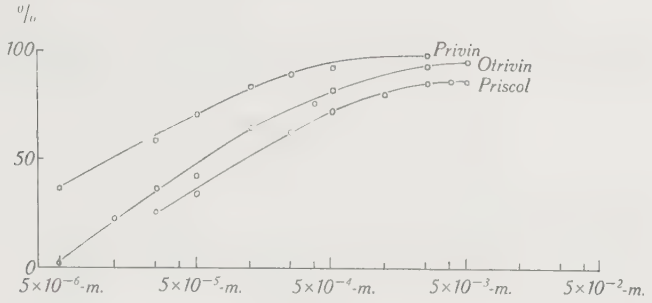


Fig. 10.

Prozentuale Hemmung der Serum-Cholin-esterase durch äquimolare Lösungen der Imidazoline.

Serum 0,5 cm³ 1 : 5 verdünnt
Acetyl-cholin 4 mg
Gefässinhalt 2 cm³
Ordinate: Hemmung in %
Abszisse: Molarität der Hemmkörper.
Zeit der Ablesung 30 Minuten.
Logarithmische Abszissen.

Fermentdarstellung nach *Birkhäuser*[1]). Zur Verarbeitung wurde Putamen eines an Carcinom verstorbenen, 60jährigen Mannes verwendet, dessen Gehirn pathologisch-anatomisch normal war. Zu den Kontrollversuchen wurde Nucleus caudatus einer ebenfalls an Carcinom verstorbenen 55jährigen Frau verarbeitet. Die Versuche wurde innerhalb von 5 Tagen angestellt. Während dieser Zeit befanden sich die Extrakte im Eisschrank. Die Extrakte wurden so weit verdünnt, dass sie in ihrer Aktivität dem 1 : 5 verdünnten Serum entsprachen. Davon kamen ebenfalls 0,5 cm³ pro Reaktionsgefäss zur Verwendung.

Substrat und Methode wie bei Serum (siehe Seite 1841).

Figur 11 zeigt bei gleicher graphischer Darstellung wie in Fig. 10 die unterschiedliche Hemmkraft der drei Imidazoline im Gehirnextrakt; aus dieser Darstellung lässt sich ablesen, dass

18 γ Otrivin
27 γ Priscol
90 γ Privin eine Hemmung von 50% erzielen können.

In der Kontrolluntersuchung wurden mit

18 γ Otrivin 51,8%
22 γ Priscol 40,8%
96 γ Privin 51,6% Hemmung gefunden.

Die Gehirn-cholin-esterase wird durch Otrivin am stärksten, durch Privin am schwächsten gehemmt.

[1]) *Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).

Privin hemmt die Serum-esterase 10mal stärker als die Gehirn-esterase. Otrivin hemmt beide Fermente ungefähr gleich. Priscol hemmt die Hirn-esterase stärker als die Serum-esterase.

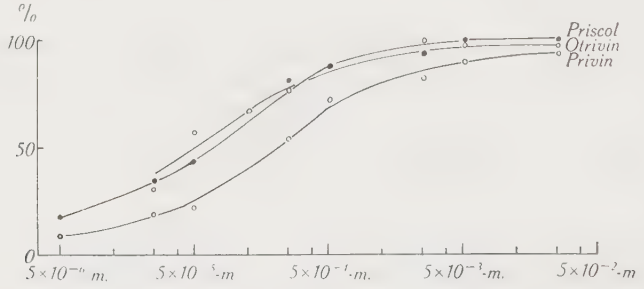


Fig. 11.

Prozentuale Hemmung der Gehirn-Cholin-esterase durch äquimolare Lösungen der Imidaziline.

Hirnextrakt 0,5 cm³
Acetyl-cholin 4 mg
Gefässinhalt 2 cm³
Ordinate: Hemmung in Prozent
Abszisse: Molarität der Hemmkörper
Zeit der Ablesung 30 Minuten
Logarithmische Abszissen.

Diskussion der Ergebnisse.

A. Wirkung der Imidazoline auf die 3 Fermentsysteme.

Um mit den Imidazolinen eine Hemmung von ca. 30—60 % zu erhalten, muss bei der Monamin-oxydase gleich viel Inhibitor wie Substrat angewendet werden, bei der Diamin-oxydase genügt eine Inhibitorkonzentration, die 10 mal kleiner ist als diejenige des Substrates; bei der Cholin-esterase muss die Inhibitorenkonzentration ungefähr 100 mal kleiner sein, um die Hemmung von 30—60 % zu erreichen. Bei Berücksichtigung dieser Verhältnisse von Substrat zu Inhibitor ist nicht von der Hand zu weisen, dass der pharmakologische Effekt der Imidazoline über eine Fermenthemmung geht. Dabei muss die Tatsache berücksichtigt werden, dass ein Ferment je nach Organherkunft durch das gleiche Pharmakon verschieden stark beeinflussbar ist, wie dies für die Serum- und Gehirn-cholin-esterase bewiesen werden konnte. Ein Pharmakon, dessen Affinität zur Hirn-cholin-esterase grösser ist als zur Serum-cholin-esterase, wird im Gehirn eine stärkere Wirkung entfalten müssen. (Die Wirkung der Esterase kann dabei durchaus milieubedingt sein.) Handelt es sich um Substanzen, die, wie die untersuchten, auf mehrere Fermentsysteme gleichsinnig wirken, so muss sich am intakten Organismus, je nach örtlicher Substratkonzentration und Affinität zum Ferment eine Wirkung heraus-

bilden, von der sich nicht sagen lässt, dass sie einheitlich cholinergisch oder adrenergisch ist.

B. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung der Imidazoline und des Physostigmins auf die Cholin-esterase.

Physostigmin und Imidazolin gleichen sich 1. in ihrer hemmenden Wirkung. 2. Sie ist in beiden Fällen eine konkurrenzierende. 3. Sie ist reversibel.

Die beiden Stoffe unterscheiden sich 1. in ihrer quantitativen Wirkung und 2. durch den Wirkungseintritt.

Stedman[1]) glaubte, dass die pharmakologische (anticholinergische) Wirkung des Physostigmins auf der Anwesenheit der Urethangruppe beruhe. Er konnte diese Ansicht durch die Tatsache belegen, dass Urethane einfacher Phenolbasen eine dem Physostigmin ähnliche Wirkung hatten.

Bloch[2]) konnte durch Darstellung und Untersuchung eines Prostigmin-isosteren und Acetyl-3-oxyphenyltrimethyl-ammonium-methylsulfates zeigen, „dass die eserinartige Wirkung eines Körpers nicht nur an dessen Eigenschaft als Urethan gebunden sein kann, sondern dass auch eine einfache quartäre Phenolbase diese Wirkung, wenn auch in viel geringerem Masse, aufweisen kann."

Massart und *Dufait*[3]) kommen bei ihren Untersuchungen über die Hemmung der Cholin-esterase durch Farbstoffe zum Ergebnis, dass nur alkalische Farbstoffe hemmen, und dass die hemmende Wirkung an eine dissoziierende substituierte Ammoniumgruppe gebunden und in ihrer Hemmkraft von deren Dissoziationsgrad abhängig ist. Quartäre Ammoniumbasen hemmen am stärksten. Das nicht-N-methylierte Thionin wirkt schwächer als Methylenblau.

In noch nicht veröffentlichten Untersuchungen an 2-Amino-cyclohexeno-thiazol, Diphenyl-2-amino-cyclohexeno-thiazol und Allyl-2-amino-cyclohexeno-thiazol konnte nachgewiesen werden, dass durch Substitution am Stickstoff der Molekel die hemmende Wirkung auf die Cholin-esterase zunimmt[4]).

Die Wirkungsweise der Imidazoline und des Physostigmins stellen wir uns auf den Grund der derzeitigen experimentellen Befunde und in Anlehnung an die *Euler*'sche „Zweiaffinitätstheorie" theoretisch etwa so vor: Mit den beiden substituierten Stickstoffgruppen werden beide Stoffe an spezifische Haftstellen der Fermentmolekel (Eiweissteil), die auch von der quartären Ammoniumgruppe des Acetyl-

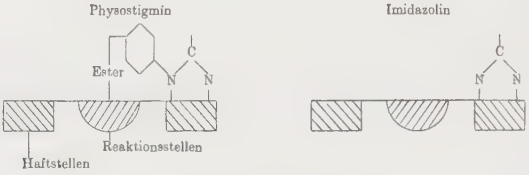
[1]) *Stedman*, Biochem. J. **20**, 719 (1936).

[2]) *Bloch*, Diss. — Arch. exptl. Path. Pharmakol. **193**, 292 (1939).

[3]) *Massart* und *Dufait*, l. c.

[4]) Darstellung der Substanzen siehe *Erlenmeyer* und *Bischoff*, erscheint demnächst in dieser Zeitschrift.

cholins benutzt werden, adsorbiert. Damit ist die blockierende Wirkung der Imidazoline beendigt. Das Physostigmin belegt nach der Adsorption mit seiner Urethangruppe die Reaktionsstelle der Fermentmolekel. Dabei hat man sich vorzustellen, dass die Haftstellen gegenüber den Reaktionsstellen zahlenmässig überwiegen und je nach Tierart und Organ verschieden sind. Die Reaktionsstellen sind in geringerer Anzahl vorhanden und nicht von wechselnder Beschaffenheit. Diese Vorstellung muss natürlich durch weitere Untersuchungen gestützt werden.



Zusammenfassung.

1. Die Imidazoline Privin, Otrivin und Priscol hemmen in der angeführten Reihenfolge die Monamin-oxydase im Substrat-Inhibitor-Verhältnis von ca. 1 : 1, die Diamin-oxydase 1 : 10, die Cholin-esterase des Serums 1 : 100.

2. Priscol hemmt die Hirn-cholin-esterase des Menschen stärker als die Serum-cholin-esterase, Otrivin hemmt beide Fermente gleich stark, Privin hemmt die Hirn-cholin-esterase schwächer als die des Serums.

3. Es wird die Hemmung der Cholin-esterase durch Imidazoline mit derjenigen des Physostigmins verglichen. Beide Inhibitorengruppen hemmen kompetitiv, reversibel, sie unterscheiden sich aber quantitativ und im Wirkungseintritt. Bei gleichzeitiger Einwirkung beider Inhibitoren wird die Hemmungswirkung nicht nennenswert über einen additiven Effekt hinaus verstärkt; bei niedriger Inhibitorenkonzentration ist die Hemmung sogar vermindert. Aus den Differenzen im Ablauf der Hemmung wird auf verschiedenen Wirkungsmechanismus des Physostigmins und der Imidazoline geschlossen, und ein Bild der möglichen Vorgänge an der Fermentmolekel entworfen.

Die Arbeit entstand auf Vorschlag und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. *H. Staub*.